

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

12

(11)Publication number : 03-128449

(43)Date of publication of application : 31.05.1991

(51)Int.Cl. G01N 27/02
G01N 27/12

(21)Application number : 02-155615

(71)Applicant : BIOCIRCUITS CORP

(22)Date of filing : 15.06.1990

(72)Inventor : RIBI HANS O

(30)Priority

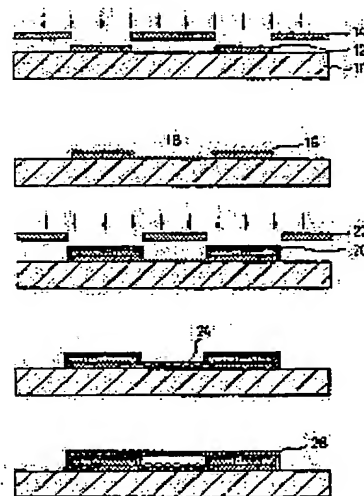
Priority number : 89 366651 Priority date : 15.06.1989 Priority country : US

(54) BIOSENSOR USING ELECTRICAL SIGNAL, OPTICAL SIGNAL, AND MECHANICAL SIGNAL

(57)Abstract:

PURPOSE: To detect an analysis object of a wide range with a high sensitivity by constituting a biosensor using a non-conductive support, a conductive surface-active agent layer, and an organic molecular layer containing a member of a specific binding pair being bound to the surface-active agent layer.

CONSTITUTION: A metal electrode 12 is vapor-deposited on a non-conductive wafer 10, and the position of deposition is adjusted by a screen 14. Then, an ultra-thin conductive surface-active agent layer 16 covers the electrode 12 on the wafer 10 and a gap 18, and a region around the electrode 12 is covered with an insulating material 20. Then, the layer 16 is activated by a receptor 24 and is protected and sealed by a film 26. A wide range of analysis target can be detected with a high sensitivity by a biosensor that is configured in this manner.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

BEST AVAILABLE COPY

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑫ 公開特許公報(A)

平3-128449

⑬ Int. Cl.⁵G 01 N 27/02
27/12

識別記号

D
A

庁内整理番号

6843-2G
9014-2G

⑭ 公開、平成3年(1991)5月31日

審査請求 未請求 請求項の数 15 (全19頁)

⑮ 発明の名称 電気信号、光学信号及び機械信号を使用するバイオセンサー

⑯ 特 願 平2-155615

⑰ 出 願 平2(1990)6月15日

優先権主張 ⑱1989年6月15日 ⑲米国(US) ⑳366651

⑳ 発 明 者 ハンス オー、リビ アメリカ合衆国、カリフォルニア 94403, サン マテ
オ, ウッドベリー アベニュー 1465㉑ 出 願 人 バイオサーキッツ コ アメリカ合衆国、カリフォルニア 94010, パーリングー
ーボレイション ム, ローリンズ ロード 1450

㉒ 代 理 人 弁理士 青 木 朗 外4名

明細書の浄書(内容に変更なし)

明 細 書

1. 発明の名称

電気信号、光学信号及び機械信号を使用する
バイオセンサー

2. 特許請求の範囲

1. バイオセンサーに機械的剛性を与える第一
の非導電性支持体であって、前記の支持体の第一
表面上に少なくとも二つの隔置された電気リード
線を含む、前記の第一の非導電性支持体、前記の電気リード線と電気的に接触し、かつ前
記の第一表面を前記リード線の間で被覆する、導
電性有機重合界面活性剤層、前記の電気接触を水との接触から保護するため
のシール被覆物、前記の重合界面活性剤層結合に結合された有機
分子層であって、水性媒体中の相補部材に結合す
るための特異的な結合対の部材を含む、有機分子
層

の複数の層を含んでなるバイオセンサー。

2. 前記の結合された有機分子がレセプターで

ある、請求項1記載のバイオセンサー。

3. 前記の結合された有機分子がハプテンであ
る、請求項1記載のバイオセンサー。4. 前記の重合脂質層が界面活性剤ジンを含
む、請求項1記載のバイオセンサー。5. 前記の界面活性剤ジーンが6~100個の炭
素原子の脂肪族鎖を有する、請求項4記載のバイ
オセンサー。6. 前記の有機分子層が相補結合部材の複合体
により前記の界面活性剤層に結合される、請求項
1記載のバイオセンサー。7. 前記の有機分子層が共有結合により前記の
界面活性剤層に直接結合される、請求項1記載の
バイオセンサー。8. 前記の支持体が透明であり、向かい合う第
二面が反射性である、請求項1記載のバイオセン
サー。9. バイオセンサーに機械的剛性を与える第一
の非導電性支持体であって、前記の支持体の第一
表面上に被覆された少なくとも二つの隔置された

電気リード線を含む、前記の第一の非導電性支持体、

前記の電気リード線と電気的に接触し、かつ前記の第一表面を前記リード線の間で被覆する、少なくとも12個の炭素原子の界面活性剤部分を有する導電性有機重合界面活性剤層であって、界面活性剤ジンの重合により生成された前記の有機重合界面活性剤層、

前記の電気接触を水との接触から保護するためのシール被覆物、

前記の重合界面活性剤層に結合された有機分子層であって、水性媒体中の相補部材に結合するための特異的な結合対の部材を含む、有機分子層の複数の層を含んでなるバイオセンサー。

10. 前記の有機分子層がタンパク質の実質的に配向された層である、請求項9記載のバイオセンサー。

11. 前記の有機分子層がハプテンの層である、請求項9記載のバイオセンサー。

12. バイオセンサーに機械的剛性を与える第一

の非導電性支持体であって、前記の支持体の第一表面上に少なくとも二つの隣置された電気リード線を含む、前記の第一の非導電性支持体、

前記の電気リード線と電気的に接触し、かつ前記の第一表面を前記リード線の間で被覆する、導電性有機重合界面活性剤層、

前記の電気接触を水との接触から保護するためのシール被覆物、

前記の重合界面活性剤層結合に結合された有機分子層であって、液体媒体中の相補部材に結合するための特異的な結合対の部材を含む、前記の有機分子層

の複数の層を含む装置をバイオセンサーとして使用する、分析媒体中の分析対象の検出方法であって、

前記の方法が、

前記の有機分子層への前記の分析対象の結合が前記の重合界面活性剤層の乱れを生じるか、あるいは前記の分析媒体中の分析対象の量に比例して前記の分析対象または前記の有機分子層に結合する

試薬が添加されて前記の重合界面活性剤層中に乱れを生じることを条件として（ここで、前記の乱れは、前記の重合界面活性剤層の電気的性質または光学的性質の変化を生じる）、前記の特異的な結合対の相補部材である分析対象を含むと推測される分析媒体を前記の有機分子層に添加すること、及び

前記の分析媒体中の前記の分析対象の存在の指示として、前記の重合界面活性剤層の電気的性質または光学的性質の変化を検出することを含んでなる、前記の検出方法。

13. 前記の分析対象がタンパク質であり、前記の特異的な結合対部材がハプテンである、請求項12記載の方法。

14. 前記の分析対象が多価であり、前記の有機分子層中の複数の有機分子に結合する、請求項12記載の方法。

15. 前記の試薬が、前記の分析対象と交差反応性の複数の分子を含む粒子である、請求項12記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

(発明の産業上の利用分野)

本発明の分野は、分析対象の検出のために導電性重合体界面活性剤層を使用するバイオセンサーである。

(従来の技術及び発明が解決しようとする課題)

最近20年間に、多数の異なる種類の分析対象の存在について分析し、且つ、多くの場合、特別な分析対象を定量し得ることの要望が次第に広がってきている。1970年代に、放射性同位元素を使用する必要を避けるために、幾つかの異なる化学が開発され、ここでRIAは特異的なリガンドまたはレセプターを検出するための主な技術であった。プロトコル及び利用可能であった装置と組合せて極限の感度に達したようである多種のラベルが開発された。殆どの努力は、実質的に自動化された方法で多数の分析を扱い得る装置を開発することに向けられていたが、多種の異なるリガンドに関する低容量分析の市場が次第に広がってきている。

この市場に関する要望は、夫々のリガンドに関して比較的少ない回数で、しかも最小の技術的能力でもって、異なるリガンドに関して拡大された数の分析を行ない得ることである。それ故、多くの場合、試料の調製のためのプロトコルは簡単であるべきであり、試料の前処理は比較的に常套のものであるべきである。

リガンドの検出に関する増大する要望に答えるために、特別な化学と組合せて装置を改良するための多くの開発があった。こうして、相当な感度であり、技術的能力の比較的に低い要件を有し、かつ新しい装置が従来の装置より高価ではない、幾つかの利用可能な装置がある。それにもかかわらず、市場の多くの特徴に関して、多種の媒体中の少量のリガンドの感度の良い検出を可能にする、簡単で、効率が高く、しかも安価な装置に対する重大な要望が依然としてある。

関連文献

米国特許第 4,489,133号明細書は、界面活性剤に結合されたタンパク質分子の規則的な配列を伴

なう操作及び組成物を記載している。トーマス(Thomas)ら著、Electron Letters (1984年) 20巻、83~84頁は、薄い絶縁体を製造するための界面活性剤二重層としてω-トリコセン酸を使用するGaAs/LBフィルムMISS切換装置を記載している。ロチナー(Lochner)ら著、Phys. Status Solidi (1978年) 88巻、653~661頁は、ポリジアセチレン多層構造及び単結における光伝導を記載している。スギ(Sugi)著、J. Molecular Electronics (1985年)、1巻、3~17頁は、エレクトロニクスに於けるラングミアー-ブロッジェット(Langmuir-Blodgett) フィルムの使用の総説を示している。レイノルズ著、上記文献(1986年)、2巻、1~21頁は、導電性有機重合体を記載している。ウィルソン著、Electron Letters (1983年)、19巻、237頁は、ポリジアセチレン結晶またはラングミアー-ブロッジェット多層フィルムを使用する三次元分子電子メモリーの原理を記載している。界面活性剤層結晶化により形成された組織化巨大分子アンサンブルを使用する電子装置の記載は、アー

ヘニアス(Arrhenius)ら著、Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1986年) 83巻、5355~5359頁、ハドン(Haddon)及びラモラ(Lamola)著、上記文献(1985年) 82巻、1874~1878頁、及びパレオス(Paleos)著、Chem. Soc. Rev. (1985年) 14巻、45~67頁、バンデブヤー(Vandevyer)ら著、J. Chem. Phys. (1987年) 87巻、6754~6763頁、米国特許第 4,624,761号明細書、フジキ(Fujiki)ら著、Amer. Chem. Society (1988年) 4巻、320~326頁、ビーガジスキ(Biegajski)ら著、Amer. Chem. Society (1988年) 4巻、689~693頁、ペチェルツ(Pecherz)ら著、Journal of Molecular Electronics (1987年) 3巻、129~133頁、ランド(Lando)ら著、Synthetic Metals (1984年) 9巻、317~327頁、デイ(Day)ら著、Journal of Applied Polymer Science (1981年) 26巻、1605~1612頁、シュット(Shutt)ら著、Amer. Chem. Society (1987年) 3巻、460~467頁、ジンドサ(Dhindsa)ら著、Thin Solid Films (1988年) 165巻、L97~L100頁、メッツガー(Metzger)ら著、Amer. Chem. Society (1988年) 4

巻、298~304頁、フジキ(Fujiki)ら著、Amer. Chem. Society (1988年)、4巻、320~326頁、ウォールトジェン(Wohltjen)ら著、IEEE Transactions on Electron Devices (1985年) 32巻、1170~1174頁、バーネット(Wernet)ら著、Semiconducting L-B Films (1984年)、5巻、157~164頁、スギ(Sugi)ら著、Thin Solid Films (1987年) 152巻、305~326頁、ピーターソン(Peterson)、Journal of Molecular Electronics (1986年) 2巻、95~99頁を含む。重合界面活性剤フィルムで生物巨大分子を固定化する方法の記載は、オシャネセイ(O'Shannessey)ら著、J. Appl. Biochem. (1985年) 7巻、347~355頁、ハシダ(Hashida)ら著、J. Appl. Biochem. (1984年) 6巻、56~63頁、パックード(Packard)ら著、Biochem (1986年) 25巻、3548~3552頁、ラグッザ(Laguzza)ら著、J. Med. Chem. (1989年) 32巻、548~555頁、ジムボ(Jimbo)ら著、Journal of Molecular Electronics (1988年) 4巻、111~118頁、ハニフィールド(Hanifield)ら著、Science (1987年) 236巻、450~453頁、ゴウ

ンダルカー(Goundaker)著、Communications (1984年) 36巻、465~466頁、クレス(Cress)ら著、Amer. Biotech. Lab. (1989年2月) 16~20頁を含む。界面活性剤層結晶化を使用するバイオセンサーが、オーエン(Owen)著、Ann. Clin. Biochem. (1985年) 22巻、555~564号並びにトムプソン(Thompson)及びクルル(Krull)著、Trends in Anal. Chem. (1984年) 3巻(7号)、173~178頁に記載されている。バデー(Bader)ら著、Advances in Polymer Sci. (1985年) 64巻、1~62頁は、生体膜のモデルとしてリポソーム中の重合体単層を記載している。

(課題を解決するための手段)

電気的に不活性な支持体、導電性界面活性剤層及びその界面活性剤層に結合された特異的な結合対の部材を含んでなる、バイオセンサーが提供される。特異的な結合対部材は、均一に配向された層として存在してもよい。分析対象は、結合された特異的な結合対部材に結合し、電気信号の変化、

光変調または界面活性剤層中の変化に帰因する構造的変調を生じることにより検出される。加工及び適用の特別な方法が、バイオセンサーに関して説明される。

特別な実施態様の説明

バイオセンサー装置及びこのような装置に関連する組成物が、分析対象の検出のために提供される。バイオセンサーは、固体支持体を含み、その上に高度に配向された界面活性剤フィルムが形成され、このフィルムは界面活性剤中の不飽和基の重合の結果として導電性である。特異的な結合対(これは、関係する分析対象と直接または間接に相互作用し得る)の部材は、支持体から遠い位置にある界面活性剤分子に接合される。関係する分析対象の結合は、電気信号、構造的な信号、または光信号の変化により分析対象の存在の検出を可能にするように、界面活性剤層を乱す。如何なる理論に拘束されることを望まないが、界面活性剤層の配座に変化があることは明らかである。

界面活性剤層に結合された部材は、均一に配向

された層であってもよく(この場合、分子は実質的に隣接している均一な結晶質である)、あるいは、特異的な結合部材への分析対象の結合が、分析対象の存在の検出を可能にする、界面活性剤層の変化を与える限り、分離されて非隣接層を形成してもよい。

特別なプロトコルに応じて、支持体は多くの形態をとってもよい。支持体は、光子の検出を可能にする半導体層を含んでもよい。半導体層は、通常、透明層により界面活性剤層から分離される。この透明層は、界面活性剤層の支持体並びに界面活性剤と半導体層との間のセパレーターとして、支持体等を通過する光の波長範囲を制限するためのフィルターとしてのみ役立つことがある。支持体は、界面活性剤層を通して支持体表面へと進み、その後界面活性剤層を逆に通る光の反射を可能にする反射性支持体であってもよい。また、支持体は、界面活性剤層に保護及び機械的剛性を与える、界面活性剤層の電気絶縁性支持体としてのみ役立つことがある。

種々の支持体、特に絶縁材が使用し得る。支持体は、不活性であり、しかも良好な電気絶縁性を有する必要がある。それは、分子レベルで平滑であり、しかも良好な接着性をもつべきである。支持体は、容易に入手でき、しかも安価である必要がある。装置を製造するためには、プレスコアリリング(prescoring)及びダイシングが必要な場合がある。支持体は異なる材料、例えば、ガラス、プラスチック、ケイ素、炭化水素、ワックス、アルキル化表面、等からつくられてもよい。選択材料は、高度に電気抵抗性のガラスまたは重合体である。ガラスは、ホウケイ酸塩、コーニング(Corning) 7095の如き低膨張ガラス、テンパックス(Tempax)、及びその他の高度に抵抗性のガラスを含む。多種の有機重合体、特に、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、等の如き炭化水素重合体、またはポリテフタレート、ポリアクリレート、ポリホルムアルデヒド、等の如き縮合重合体を使用し得る。

支持体の厚さは、層の合計数並びにそれらの厚

さ及び性質、バイオセンサーチップ要素の構造、構成等に応じて、広く変化してもよい。通常、その厚さは、少なくとも約5ミルで約500ミル以下、通常約100ミル以下である。しかしながら、特別な厚さは、それがチップの操作を妨害せず、しかも所望の構造的な支持を与える限り、通常、重要ではない。界面活性剤層を受容するのに役立ち、界面活性剤層と接触する、支持体の表面は、層の形成中の欠陥を最小にするため、清浄で、しかも汚れやほこりのないものであるべきである。重合界面活性剤フィルムは疎水性表面を支持体に当てることにより、重合界面活性剤フィルムを支持体に移すためには、支持体が疎水性にされることを必要とする。ガラスを疎水性にするための一つの方法は、アルキル化を伴う。アルキル化の例は、ヘキサン中のアルキル化剤の5%溶液の使用を伴う。アルキル化剤は、メチルアルキルハライドシラン基を含む、1~50個の炭素、通常1~18個の炭素を有する炭素鎖であり得る。例えば、ジメチルオクタデシルクロシランが、使用し得る。

たは DMF、DMSO、アセトン、アルコール、ケトン、フラン、ジオキサン、エタノールアミン、フェノールを単独で、もしくは組合せて含む、水と混和性のその他の極性有機溶媒等を含み得る。グリセロールの如き、高沸点溶媒は加熱中の蒸発を防止し、一方、低沸点溶媒は蒸発を促進する。界面活性剤フィルムを安定化するため、特に界面活性剤の極性のヘッドグループ(headgroup)、リンカー及びリガンドと有利に相互作用するため、その他の有機溶媒が使用し得る。また、サブフェースは、イオン性の相互作用、即ち電荷安定化により界面活性剤に影響を及ぼす有機もしくは無機の酸もしくは塩基を含み得る。そのイオン成分は、一価及び多価のイオン及びカチオン、並びに単糖類及び少糖類を含み得る。

単量体重合性界面活性剤は、塗布溶媒1ml当たり0.01~50mgの範囲の濃度でサブフェースに塗布される。典型的には、0.1~1.0mg/mlが最も有益である。フィルムは、通常、界面活性剤に結合されたリガンドを含む重合性界面活性剤とリガンド

浸漬及び空気乾燥後、ガラスはクロロホルムで数回洗浄され、空気乾燥され、高純度の水で数分すすがれ、その後、再度空気乾燥される。洗浄工程は、数回繰返されてもよい。

界面活性剤フィルムは、通常の脂質単層技術により、水性サブフェース(subphase)の表面で形成される。有機溶媒中に溶解された、単量体界面活性剤組成物を含む溶液が、微量ヒペットによりサブフェース表面に適用される。溶媒は、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、及びデカンの如き炭化水素を含み得る。炭化水素は、直鎖、分枝鎖であってもよく、または不飽和であってもよい。溶媒は、モノー、ジー、トリーもしくはテトラクロロメタンの如きクロロ炭化水素を含んでもよい。界面活性剤組成物の溶解性を高めるために、アルコール、フラン、エーテル、エステル、等の如き、更に極性の溶媒の添加が、加えられてもよい。

サブフェース組成物は、形成される界面活性剤層の物理的性質を指示する。サブフェースは、純水、グリセロール、ポリエチレングリコール、ま

が結合されていない充填材界面活性剤との混合物により形成される。充填材界面活性剤の重合性部分は、典型的には、リガンドを含む界面活性剤の重合性部分に類似するか、または同じである。充填材界面活性剤は、リガンド界面活性剤の全ての化学的特性を有してもよい。それは、生物学的に不活性であり、かつ非特異的結合に対して弾性である、極性ヘッドグループをもつべきである。一例として、充填材界面活性剤は、生物物質の非特異的接着を防止するように作用する、ヒドロキシル、ポリヒドロキシルもしくはポリエチレンオキサイドヘッドグループを有してもよい。また、充填材脂質は、フィルムの光学的視覚化を増強し、かつ光の光電子放出を増強するために発色団を含み得る。充填剤界面活性剤へのリガンド界面活性剤の混和モル分率は、支持マトリックスで役割を果たす。それは、一般に0.01~90%、更に通常0.1~10%、通常1.0~5%の範囲である。充填材脂質の極性ヘッドグループの組成は、生物物質の特異的結合を变調し得る。立体置換はタンパク

質結合を増強することができ、立体障害はタンパク質結合を抑制し得る。充填材脂質の極性ヘッドグループの組成は、こうして、結合親和性及び相互作用を調節するための制御機構を与えることができる。

フィルム形成は、サブフェースを表面またはウェルに適用することを伴う。単量体界面活性剤を含む溶液は、サブフェース表面が実質的に飽和されるまで、サブフェース表面に適用される。界面活性剤の乾燥された島が、通常、明瞭になる。その後、水性媒体が、通常、約 100℃以下の温度に加熱されて界面活性剤を融解し、これが島の消失をもたらす。島が一旦溶解したとき、媒体が室温に冷却され、その後室温より低い温度、通常約 2℃に更に冷却される。高品質フィルムの形成は、単量体界面活性剤が気体/サブフェース界面で高度に結晶性であることを必要とする。結晶性フィルムは、しばしば、密に充填された単結晶領域を含む。大きな領域は、製造方法に望ましい。領域の大きさに影響することがわかった因子は、結晶

化温度、塗布溶媒の組成、及び塗布溶媒の量である。結晶の成長は、帯域改善(zone refinement)、後フィルム加圧、結晶リアニリング法、部位特異的核生成、種結晶の使用、制御された雰囲気条件、エピタキシャル結晶化、サブフェース組成の変化、等の如き幾つかの方法を用いて、開始し、制御し得る。大きな単結晶は、最初に界面活性剤フィルムを結晶化し、その後強力UVレーザー源を用いてフィルムの狭い幅を照射することにより、核形成し得る。サブフェース温度が界面活性剤の融解温度よりも上昇される場合、フィルムの非重合領域は液体になる。サブフェースが界面活性剤の融解転移温度よりも低く逆冷却される場合、モノマーの結晶は結晶性重合体領域から核形成する。

その後、界面活性剤は、通常の開始系、例えば紫外線を用いて、重合される。その他の開始系は、光と感光性開始剤との組合せ、熱不安定性化学開始剤等を含む。このような開始剤は通常であり、本明細書で説明する必要はない。活性化は、少なくとも実質的に完全な重合が得られるまで、維持さ

れる。また、重合は、電子線、X線源及びその他のシンクロトロン放射線を含む高エネルギー光を用いて行なわれてもよい。重合の一つの方法は、回路をフィルムにパターン化する目的で、集中レーザー光及びXY制御ボジショナーを用いる部位局所重合を伴う(オガワ(Ogawa)ら著、Langmuir (1988年) 4巻、195頁を参照のこと)。

フィルムの品質は、偏光複屈折、横方向のフィルム加圧を含む機械拡散技術、または光脱色後の螢光回復のような螢光測定の様、方法を用いて光学的に検査し得る。フィルムは、欠陥、結晶領域の大きさ及び形状、並びに保全性について検査される。欠陥は点欠陥、端部欠陥、分解、破損であり得る。結晶領域の大きさ及び形状は、樹木状模様、大きな無傷の欠陥のない領域、結晶圧密度(compactness)及び結晶配向の様、種々の結晶の特徴により特性決定される。フィルムは、バイオセンサーの製造のため異なる支持体に移されてもよい。移動は、通常のラングミアープロジェクト法(ジョージ(George) L. ゲインズ(Gaines)

Jr. 著、"Insoluble Monolayers at Liquid Gas Interfaces", インターサイエンス・パブリッシャーズ(Interscience Publishers)、I. プリゴギン(Prigogine) 編集者、ジョン・ウィリー・アンド・サンズ(John Wiley and Sons) (1964年)を参照のこと)を適用することにより、行なわれる。

表面上に電極を備えた支持体は、支持体の疎水性表面が重合界面活性剤フィルムの疎水性表面と相互作用するように、重合体フィルムと接触して置かれる。支持体と界面活性剤フィルムとの良好な接触は、安定な複合体をもたらす。移動は、支持体をサブフェース表面を通して垂直に浸漬することにより、あるいはサブフェース表面の上に支持体を水平に置くことにより、生じ得る。また、界面活性剤フィルムは、その親水性表面が親水性支持体に密に接触して置かれるように移動させ得る。この試みは、支持体がサブフェース表面の下から持ち上げられ、引き出されて、その結果、フィルムが支持体を被覆することを必要とする。多

層の重合体フィルムが種々の目的で支持体に付着でき、これらのフィルムは、非線形光学装置用のフィルム、増大された導電線の多重フィルム、並びに分子電子装置用のタンパク質フィルムと界面活性剤フィルムとの複合層の構成物を含む。

重合性界面活性剤は、前記の従来技術より明らかなように、文献に広く説明されている。界面活性剤層の組成は、界面活性剤が重合性であり、かつ極性末端（これは、相補結合タンパク質のリガンドとして役立ち得る）を有する場合には、均一であってもよく、あるいは一部が重合性であり、その他が重合性でない界面活性剤の混合物が使用される場合には、不均一であってもよい。重合性界面活性剤及び／または非重合性界面活性剤は、リガンドに結合するための部位であってもよい。

界面活性剤分子は単一の脂質鎖、例えばジイン酸または複数の脂質鎖、例えばジエステルグリセリド、好ましくは単一鎖を有してもよく、一般に2個以下の脂質鎖を含む。

例示の界面活性剤は、6・8-ヘキサデカジ

ン酸、2-ヒドロキシエチルオクタデカ-8-10-ジエノエート、エイコサ-12, 14-ジエニル-10, 12-ホスファチジルセリン、ペンタエイコサ-10, 12-ジイン酸、トリコサ-10, 12-ジイン酸、多数のジイン基を有するアセチレン化合物及び単一のアシル鎖重合性界面活性剤を含むその他の重合体界面活性剤を含む。

種々のその他の界面活性剤が、重合性界面活性剤の希釈剤として存在してもよい。これらの界面活性剤は、天然産、合成またはこれらの組合せであってもよく、ラウレート、ステアレート、アラキドネート、コレステロール、胆汁酸、ガングリオシド、スフィンゴミエリン、セラブロシド、等により例示し得る。

種々の官能基が、重合を与えるために、フィルム中に存在してもよく、これらは電子移動を可能にする。ふつう、官能基はモノイン及びジインを含むが、活性モノイン、例えば α -ケトモノインの如き、その他のポリ不飽和分子が使用し得る。

ふつう、界面活性剤の疎水性部分は、少なくとも

も6個の脂肪族炭素原子の鎖、通常少なくとも6個の脂肪族炭素原子、一般には合計約100個以下の炭素原子、通常約30個以下の炭素原子の直鎖を有する。好ましくは、炭素原子の数は約12~26個、更に通常14~16個の範囲であり、16~24個の炭素原子が更に好ましい。

炭化水素は、結合された螢光染料、電子供与基または電子受容基、及び増大された導電性のために重合体鎖をドーピングする基をもつことができる。フィルム安定性を高める目的で、炭化水素鎖はフッ素化されてもよく、あるいはモノハロゲン化もしくはポリハロゲン化されてもよい。ハロゲン化は、炭化水素鎖充填に影響し、フィルムの融解転移を増大することが知られる。

脂質分子は、カチオン性、アニオン性または中性（ノニオン性）の親水性部分中で終端し、この場合、官能基は、ノン-オキシカルボニル、例えばカルボン酸、エステル及びアミド；アルデヒドまたはケトンの如きオキシカルボニル；エーテル、ポリエーテル、及びヒドロキシルの如きオキシ；

一級アミン、二級アミン、及び三級アミン並びにアンモニウム等の如き、アミノ；ホスフェート、ホスフェネート、及びホスホンアミドの如き、リン酸のエステル及びアミド；チオール、スルホネート、スルフェート、及びスルホンアミドの如き、硫黄官能基、等を含み得る。親水性基は、薬剤または発色団を含んでもよい。通常、重合性官能基は、少なくとも1個の炭素原子、一般に約1~50個の炭素原子、更に通常約1~8個の炭素原子により、極性末端及び非極性末端から分離される。重合性官能基は、典型的に、界面活性剤フィルムの疎水性内部に組込まれる。重合基の例は、ポリビロール、ポリアムリン、ポリチオフェン、ポリ（イソチアナフテン）ポリ（アルキルチオフェン）、ポリジアセチレン、ポリアセチレン、等を含む。

また、ジアセチレン基が界面活性剤の炭化水素鎖に組込まれてもよく、その結果、一つより多い基が重合のために存在する。界面活性剤鎖中に2個以上の重合性基をもつことにより、導電性重合体の多重度が得られる。この配座は、一層高い導

電率及び機械的強度のフィルムをもたらす。個々の重合性基は、1～50個の炭素だけ離れた、典型的には2～10個の炭素原子だけ離れた、規則的な間隔で隔置し得る。鎖中に、その長さが可能な限り、多くのこれらの基があってもよい。ヘッドグループの変化は、フィルムの安定性、表面電荷、非特異的結合または液体マトリックス効果の減少、及び化学的修飾の容易さの如き、改良されたフィルムの品質を与える。また、界面活性剤の炭化水素尾部は、親水性基で終端し、その結果、界面活性剤は双極性である〔シェー(Sher)著、Justus Liebigs Ann. Chem. (1954年)589巻、234頁、及びアキモト(Akimoto)ら著、Angew. Chem. (1981年)20巻(1号)91頁を参照のこと〕。

界面活性剤に結合されるリガンドの所望の密度に応じて、リガンドは界面活性剤の約1～100モル%、更に通常、少なくとも約5モル%、好ましくは少なくとも約20モル%、一般に約80モル%以下で存在し得る。モル比は、リガンドの大きさ及び性質、隣接するリガンドが層中に所望されるか

否か、等に依存する。リガンドは、エステル、例えばカルボキシレート及びホスフェート、エーテル、オキシもしくはチオ、アンモニウムを含むアミノ、ヒドラジン、カルボキサミド、スルホンアミドもしくはホスホルアミドの如き、アミド、これらの組合せ、等を含む通常の官能基により結合されてもよい。特別の基は、糖類、アミノサッカリド、カルボキシサッカリド、還元糖、等を含む、単糖類及び多糖類の両方を伴ない得る。特別の基は、双性イオン、例えばペタイン、グルコースの如き糖、グルクロン酸、 β -ガラクトサミン、シアル酸、等、ホスファチジルグリセロールセリンの如きフォスファチジルエステル、イノシトール、等を含む。

リガンドは、反応性基を含む、如何なる小さな分子であってもよい。典型的なリガンドは、ビオチン、アルカロイドの如き薬剤、抗原、多糖類、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、イオン性基、重合性基、リンカー基、電子供与基もしくは電子受容基、疎水性基、または親水性基であり得る。

また、リガンドは、更に化学的に修飾されて新しい物理的特徴またはフィルム特性をもたらし得る部位として役立ち得る。

また、リガンドは光活性化基または光開裂基であってもよく、この場合には、パネル試験のためのバイオセンサーの可能性が非常に魅力的になる。光活性化または光開裂及びマスキングを用いて、異なるレセプター、抗体、薬剤等と同じバイオセンサーに選択的に結合でき、パネル試験またはスクリーニングに大きな利点を与えることができる。利点の幾つかは、余計な工程なしに同時に試験することによるスクリーニングの容易なこと、及びコストである。これらのパネルは、レセプター試験、モノクローナル抗体スクリーニング、治療薬の発見、癌スクリーニング用の診断、乱用薬または治療薬の試験、尿道感染、及び性的感染症試験に関し、研究または工業で使用し得る。また、バイオセンサーは、食品工業に於ける環境試験等にも使用し得る。再使用可能なバイオセンサーパネルはフロー血球計算装置またはその他のこのような

装置に組み込み得る。

本発明の物品は、ふつう、所望の層を得るための特別な条件を用いる通常の技術を用いて、調製し得る。ふつう、ラングミアープロジェクト技術が、前記の文献に記載されるように、使用される。当該方法を使用するに際し、所望の結果のための特別なパラメーターでもって使用されるべき特別な範囲に関する案内のための実験部分に注意すべきである。

製品の性質に影響するのに使用し得る多数のパラメーターが、利用し得る。これらのパラメーターは、pHイオン強度、使用されるカチオン、例えば一価及び多価のカチオンを含む緩衝液；鎖長、重合性官能基の状態、重合性官能基の性質、及び極性ヘッドグループの性質の如き考慮事項を含む、重合性界面活性剤及び非重合性界面活性剤の両方に関する界面活性剤の組成；界面活性剤及び溶媒の濃度、溶媒の性質、塗布方法、及び使用される界面活性剤の量（これらはマルチラメラ層の形成に影響を及ぼす）を含む、界面活性剤層が形成さ

れる方法；並びにフィルム張力、結晶化時間、温度、湿度、E界（電界）、及びM界（磁界）（タンパク質双極モーメント）を含む。

界面活性剤に共有結合されるリガンドは、通常、特異的結合対の部材である。こうして、リガンドは広く変化してもよく、通常、約2 kDa未満、更に通常約1 kDa未満の分子である。ふつう、リガンドは、ハプテン性であると考えられ、これはオリゴペプチド、オリゴヌクレオチド、糖または少糖等を含む、小さな有機分子を含み得る。しかしながら、幾つかの状況で、界面活性剤に結合されるリガンドは、通常約500kDaを越えない、更に通常約200kDaを越えない巨大分子であってもよい。こうして、タンパク質、核酸、または高分子のその他の重合体もしくは非重合体化合物が、また使用されてもよい。また、特別なイオンに結合するクラウンエーテルを使用する可能性がある。一種以上の界面活性剤がリガンドに結合し得る特別な方法は、本発明に重要ではなく、ふつう、便利、合成の容易さ、安定性、利用可能な官能基、

等に依存する。合成巨大環式複合体が、種々の天然及び非天然の化合物の分子認識の目的で、界面活性剤層中に混合されてもよい。

リガンドは、他の分子に共有結合を与え得る分子であってもよい。カルボキシ基は、カルボジイミドで活性化でき、アルコール、フェノール及びアミンと反応する。ヒドラジンは、特に還元条件下で、カルボン酸、ケトン及びアルデヒドと反応し得る。チオールは、マレイミド、アクリレート、等の如き活性オレフィンまたは活性ハライド、例えばα-クロロアセチル等と反応し得る。非共有結合または共有結合に関し、幾つかの酵素基質、インヒビターまたは自殺インヒビターが、相補酵素と共に使用し得る。

多くの場合、特別なリガンドが種々の目的で使用される。例えば、ビオチンがアビジンまたはストレプトアビジンに結合するのに使用でき、この場合、その後に相補部材が多種のその他の分子を連鎖するのに使用し得る。種々のレクチンが、関係する分子に結合し得る多種の糖を結合するのに使

用し得る。表面膜レセプター、可溶性レセプター等の如き相補レセプターに結合する特異的リガンドが使用されてもよい。

レセプターを界面活性剤に直接または間接に結合することが、特に重要である。直接結合は通常、共有結合であり、一方、間接結合は、通常、非共有結合である。特に重要なレセプターは抗体であり、これらはIgA、IgD、IgE、IgG及びIgMを含み、これらはモノクローナルまたはポリクローナルであってもよい。抗体は、無傷であってもよく、全部もしくは一部開裂されたそれらのスルフヒドリルブリッジであってもよく、Fab₂またはFab等にフラグメント化されてもよい。無傷の抗体及び完全に開裂された抗体は、組換えプロテインA-抗体ハイブリッドを分析に混和させるのに使用し得る。抗体の少糖部分によるヒドラジンへのカップリングは、無傷抗体、部分開裂抗体及び完全開裂抗体を用いて行ない得る。マレイミド連鎖は、無傷抗体、部分開裂抗体及び部分開裂抗体並びにFab₂フラグメントに関して使用でき、一方Fabフ

ラグメントは抗体ハイブリッド中に組込み得る。重合体フィルムへの抗体カップリングに関するその他の例は、組換えハイブリッドリンカータンパク質及び組換え抗体分子の使用を含む。抗体は、更に結合のための結合部位の利用可能性を確保するためにFc部分で官能化し得る。

電極支持体は1mm²より小さくてもよく、10cm程度に大きくてもよく、その大きさは重要ではない。刻み目入り領域(scored region)を有する大きなシートが使用されてもよく、この場合、個々のウェーハは加工後に分離し得る。界面活性剤層を受容する電極支持体は、種々の方法で調製し得る。都合よくは、金属電極の蒸着またはスパッタリングが、所望の電極の形状を有する指定金属板型を絶縁支持体の上に置くことにより使用し得る。

板型で覆われた支持体が真空スパッタリング装置中に置かれ、この場合、金、銀、白金、アルミニウムまたはこれら金属の組合せが蒸発容器中に入れられ、装置が、一般に約10⁻⁵トルに等しい低圧まで、排気される。電極蒸着のための板型は、

化学ミリングにより調製し得る。最初に、光学透明画が、リノグラフ法、写真法、光レーザープロッター法等を用いて、調製し得る。光学透明画は、電極配列のブラックアウトラインである。透明画は、ポジティブフォトレジスト乳剤で前もって被覆されたシート材料の上に置かれてもよい。その後、透明画—乳剤—金属サンドイッチが光に露出されて、酸浴中でエッチングされる。絶縁支持体上に電極を調製するための別法は、シルバーペイントによる塗装、再銀引き法、及びシルクスクリーンニング法を含む。

シルバー塗装による電極の調製は、重合体で被覆された絶縁支持体上で電極対を直接塗装することを伴なう。塗装の前に、フィルムの品質が顕微鏡検査により検査される。無傷の重合体フィルムは、ロードミンフィルターを用いて、明るいオレンジ色に見える。例えば、シルバーペイントを用いて、木製アプリケーションの中央部分の10～15mmを軽度塗装し得る。アプリケーションの端部を指で固定し、フィルム上でペイント部分をつま

み、穏やかに圧延して幅約2mmの電極を形成する。アプリケーションが再度使用されて、約3mm離れた平行の電極を形成する。その後、銅接着ストリップ片が、電気測定用の電気回路に銀電極を取り付けるために使用し得る。その後、シルバーペイントが、銀電極と接触する銅ストリップの上部に被覆し得る。

電極を調製するための別法は、ガラス支持体を金属で被覆して前面コートを形成することを伴なう。典型的な金属は、クロム、銀、金、白金、ニッケル、合金、インジウムスズ酸化物の如き酸化物、導電性重合体及び無機物質を含む。ネガティブもしくはポジティブのフォトレジストフィルムが、金属表面への噴霧、積層、浸漬等によりコート上に付着される。マスターマスクは、高分離能技術を用いてコンピューターの助けによる設計により形成される。フィルムの組成に応じて、UVまたは白色光による照明または光活性化が使用されてもよい。その後、フォトレジストが、苛性ソーダの如き現像試薬を用いて現像されて、ネガテ

ィブフォトレジストの未露出領域を除去する。化学エッチングは、未保護金属を、ひき続き除去する。残留フォトレジスト材料の除去は、10%のNaOHを用いて3～5分間で行ない得る。すすぎ工程は10%の洗剤を含み、10～20メガオームの水中で2～3回すすぎ、その後、高純度の水、ついで有機溶媒中ですすぐ。電極は、表面の水を除去するために加熱されてもよい。加熱は、ほこりのない炉を用いて、90～150℃の範囲の温度で30秒～1時間行なわれる。上記のようにして調製された重合体フィルムは、その後、電極上に重なるように、支持体—電極に移される。移動は、上記の方法により行なわれる。

金属電極は、水との接触に対しシールされてもよい。パラフィルム、ヘメシール(hemeseal)、ゴムシリコン、ゴムセメント、アクリレートを含むUV硬化性材料、シアノアクリレート、ワックス、フッ素化脂肪族化合物、グルー、テフロン、またはその他の市販のシーラントの如き、種々の材料が、水からの絶縁を与えるために使用し得る。

パラフィルムに関し、そのフィルムは電極の上に置かれ、フィルムが圧縮されて気泡を除去し、ウェーハが温められて、パラフィルムを軟化させ電極を被覆する。その他のシーラントが電極の上に被覆されてもよく、適当な場合には、チップが温められて粘度の低下を可能にする。電極の高分離シールは、蒸着法、スパッタリング等により行ない得る。蒸着に関し、支持体上の金属電極トレースに対し対称であるが、金属トレースよりわずかに広い開口部を有する板型が、重合体で被覆された電極表面の上に置かれる。支持体及びマスクが、蒸着装置中に入れられ、その後、酸化ケイ素の如き絶縁材が、電極が絶縁材で完全に被覆されるような方法で、蒸着される。絶縁材は、電極の端部をわずかに越えて広がるべきであり、その結果、それは電極を環境から完全に分離し、重合体フィルムを未被覆電極間に残す。

絶縁の完結後に、脂質フィルムが活性化し得る。活性化は、脂質にカップリングされた分子及び結合されるべき分子の性質に依存する。この時点で、

乾燥バイオセンサーウェーハは、絶縁支持体、結合のための結合分子、例えばリガンドを有する重合体フィルム、水分に対しシールされる平行な金属電極、並びに金属導電性リード線を含む。

センサーは、特異的な結合対部材を電極支持体表面上の重合体の脂質に直接または間接に特異的にカップリングすることにより活性化される。相補部材が抗体である場合、センサーへの抗体のカップリングは、抗体の結合部位が特異的な抗原と自由に会合する状態のままであるように、行なわれる。

多数のカップリング対が使用されてもよく、この場合、結合は共有または非共有であってもよい。酵素、レクチン、毒素、可溶性レセプター、等の如き、相補リガンドに特異的に結合する種々のタンパク質が使用し得る。例示タンパク質は、DHFR、ストレプトアビジン、アビジン、コレラ毒素、レクチン、C-H-ras 発ガン遺伝子生産物、及びスクレアーゼを含む。少糖類との連鎖に関し、ヒドラジンはそのまま使用されてもよく、あるいは

重合体、例えばポリ(アクリルヒドラジド)に結合されてもよい。また、ビオチン、ヌクレオチドもしくはその他の分子認識類縁体が、使用し得る。

ssDNAまたはRNAの如き核酸が使用し得る。マレイミド連鎖が、チオールを含む分子(これはビオチンであってもよい)、アビジン、リガンドもしくは結合タンパク質、スルフヒドリルを含む重合体、核酸、または分子認識類縁体への連鎖のために使用し得る。例えば、官能性少糖類部分を有する無傷抗体は、過ヨウ素酸により開裂されてもよく、得られるアルデヒドが還元性条件下でヒドラジンと反応させられて、安定な炭素-窒素結合を形成する。マレイミドと反応するためのスルフヒドリル基を与えるために、抗体は、活性化オレフィンとチオエーテルを形成するために、螺番部で還元されてもよく、螺番部で部分開裂されてもよく、あるいは螺番部付近でタンパク質分解で開裂されてもよい。夫々の場合、特異的結合対の相補部材への結合のための所望の部位が結合に利用可能であることを確実にする連鎖の方法を選択する

ことに、注意が払われる。また、スルフヒドリル界面活性剤が、抗体分子のスルフヒドリル基に結合されてもよい。

結合分子が水性環境中に保たれるべきである場合、下記の操作が有効であることがわかり、例示のとおり処理し得る。水性媒体が形成され、これは通常約4~9、好ましくは約5~9の範囲のpHで緩衝される。塩濃度は、一般に、約10mM~1モルの範囲である。例示緩衝剤は、リン酸塩、ホウ酸塩、パービトロン、炭酸塩、トリス(Tris)、MOPS、MES、等を含む。例示緩衝剤組成物は、リン酸塩緩衝食塩水；138mM NaCl、50mM リン酸カリウム、pH7.2；200mM ホウ酸ナトリウム、pH8.2を含む。PBSは単層に有利であり、カドミウムはその層を安定化することがわかった。多価カチオンの濃度は、カチオンの性質に或る程度依存し、一般には約0.1~200mM、更に通常約10~100mMの範囲であり、全塩濃度の決定の際に含まれる。約10~140mM NaCl、4~40mM トリス、pH6.5~7.5並びに付加的な適当なカップリング剤

及びレセプターを含む水性緩衝液中に重合体表面を沈めた後、反応混合物は反応の完結に十分な時間にわたって放置され、その後洗浄される。相補対部材による活性化の後、バイオセンサーは通常、貯蔵のためにカバーが施される。そのカバーは除去可能であり、使用前に除去される。種々のフィルムが、保護環境下でバイオセンサーをシールするのに使用し得る。

分析を行なうため、試料は、センサー表面を覆う溜め緩衝液中への直接注入により、センサーを覆う浅いフローセル中の毛管作用により、フローセル中の液体ポンプ輸送により、センサー表面を覆う湿った表面への気相吸着及び拡散、等によりバイオセンサー上に導入し得る。極めて低い濃度、例えば約 10^{-12} M未満の分析対象を検出するためには、フローセル法が好ましい。何となれば、それは、表面上で特異的結合部材を濃縮するように、大容量の試料をセンサー表面上に通すことを可能にするからである。より一層高い濃度では、溜めセンサー形状が有効である。何となれば、拡散速

度が因子でなくなるからである。

種々の生物学的方法、試験管内の出来事及び商業的方法のオンライン監視は、センサー表面上にフローセル装置を置くことにより行なわれる。液体がセンサー表面上を通される際に、溶液からの分析対象がセンサー上の特異的レセプターに結合する。

信号発生の方法は、直接及び拮抗の抗体/抗原結合を含む。信号は、例えばバイオセンサーへの抗原結合により発生され、この場合、抗体は、それらの抗原-結合部位が結合に自由であるようにバイオセンサー上で固定化されている。拮抗結合分析は、タンパク質、ペプチド、少糖類、薬剤及びその他の小さいリガンドを含む、小さい、通常、多価の分析対象に使用される。拮抗分析は、信号増幅のための一価または多価のリガンドの使用を伴う。

細胞形質発現系は、界面活性剤フィルム中に直接組み込める、天然産界面活性剤により連鎖されたタンパク質を形成するのに利用し得る。バクテ

リアまたは哺乳類細胞は、天然界面活性剤に代えて、ジアセチレン性ミリスチン酸の如き非天然重合性界面活性剤を与えることができる。細胞形質発現の一つのこのような例は、単一アシル鎖がポリペプチドに生化学的にカップリングされる、ミルスチオイルレーション(myristoylation)経路である。その他の例は、ホスファチジルイノシトールの形質発現経路の使用である。この経路は、少糖類部分によりホスファチジルイノシトールに結合されたタンパク質レセプターの可溶性形態を形質発現するのに使用し得る。細胞が非天然の重合性ホスファチジルイノシトールまたは重合性脂肪酸を与えられる場合には、分離されたタンパク質/レセプター-少糖類-リンカー-ホスファチジルイノシトールは重合性界面活性剤フィルムに直接使用し得る。

表面に結合される特別な組合せに応じて、多種の異なる物理的出来事が生じることがあり、これらが信号の検出を可能にする。信号は重合界面活性剤層の乱れに帰因し、この乱れが重合界面活性

剤層の電気的性質、光学的性質または構造的性質の変化をもたらす。分析対象が小さく、分析対象結合分子へのその結合が、正確な検出を妨げるように、殆どまたは全く乱れを生じないで、重合体層に小さな影響を有する場合には、信号増幅のための種々の方法が使用し得る。例えば、信号増幅は、電極の形状の最適化により、または増大された統計上の正確度のために配列中のセンサーの数を増加することにより、得ることができる。センサーの配列は、1000個/平方インチまで集中し得る。また、二つの電極間の距離が短縮し得る。二つの電極間の領域の長さ対電極間の幅の比の増加は、フィルムの導電率の線形増加に相当する。

異なる型の分析が設計し得る。DNA分析の場合には、一本鎖DNAが一つ以上の付着点を用いて、フィルム中に固定化される。その付着は、共有または非共有であってもよく、例えばビオチン、アビジン、ハイブリダイゼーション、等であってもよい。DNAの相補鎖を含む試料が添加される場合、DNA二重らせんは信号発生をもたらす。

ウィルス分析の場合には、ウィルスカプシドまたはエンベロープが固定化抗体に直接結合し得る。巨大分子は、ウィルス分析と同様の方法で分析される。血清学に関し、同じ原理が適用するが、抗原が固定化され、抗体が測定される。重合体フィルム中に固定化された α -ガラクトース-1, 4- β -ガラクトースは、P. フィンブリエア(Pimbricia)バクテリアのレセプターに結合し得る。拮抗分析は、置換方式(この場合、拮抗はフィルムの表面で直接に起こる)、または更に直接方式(この場合、多価の交差反応部分と拮抗体分析対象がバイオセンサーに同時に添加される)で、小さな分子に使用し得る。

種々の分析対象を検出するために、種々の系が使用し得る。重合体に付着された抗原でもって、重合体上の抗原とレセプター、例えば抗体のための分析対象抗原との間で拮抗分析を行ない得る。また、フィルムに結合された分析対象分子のまわりのポリエチレングリコール充填が使用でき、この場合、分析対象結合はグリコールを置換して、

フィルムの乱れを生じる。この分析は拮抗の必要を避ける。界面活性剤の極性末端としてポリエチレングリコール鎖を有することにより、これらの分子は並んで規則的な分析を形成し得る。分析対象の結合は規則的な充填を乱し、重合体層の構造変化をもたらす。多価の抗原を用いて、コッキング(cocking)を行なうことができ、ここでコッキングは、多価の抗原の結合が、重合体の配座の変化でもってフィルムの曲げを生じることを目的とする。多価の抗原は、ビーズ、重合リボソーム、巨大分子組立て、化学的に架橋された分子、化学的に合成された多価の分子、等に化学的に架橋された抗原により調製し得る。また、薬剤/流動粒子が伴なわれてもよく、この場合、粒子は表面への結合に関して分析対象と競合する。粒子の後に液体の流れを有することにより、重合体組織が信号の変化でもって変更し得る。その他の技術は、ミクロンスポンジ、重合リボソーム、巨大分子複合体または自己ドーピング重合体の如き、ドーパント放出複合体を伴ない得る。界面活性剤重

合体と相互作用するドーパントの存在は、信号の変化を与える。アクチン及びミオシンの使用に基いて、種々の緊張装置が使用し得る。こうして、緊張フィラメントまたは横断アクチンフィラメントが使用でき、界面活性剤重合体の配座の変化をもたらす。

タンパク質/界面活性剤フィルムの圧電特性が、分析対象検出の目的で、利用し得る。巨大分子結晶組立体は、組立体の質量、結晶空間群対称、及び組立体が置かれる電界に依存する、特定の共鳴周波数を有する。分析対象分子が巨大分子組立体に結合する前及び後の周波数シフトを測定する目的で、振動周波数監視が使用し得る。

抗イディオタイプが、二価グローブ及びコッキンググローブとして使用でき、この場合、抗体は界面活性剤重合体に結合させることができ、抗体へのリガンドの結合は抗イディオタイプの結合を抑制する。多価の抗イディオタイプは、界面活性剤に結合された抗体の架橋及び重合体の配座の変更をもたらす。

リンカー部分の末端で付着された天然リガンドを有する二価のリンカー分子は、レセプター/有機導電層をプレストレインする(prestrain)のに使用し得る。リガンド間のリンカーが若干非可逆性であり、例えば環状分子、特に芳香族リンカーである場合には、二価結合は立体的に歪んだ表面をもたらす。重合界面活性剤層の歪は、リンカーの剛性及びリガンドとレセプターとの親和性が増大されるにつれて、増加する。二価の分子が拮抗分析に使用でき、この場合、関係する一価の分析対象がプレストレインされた表面に溶離される。二価の部分が一価の分析対象により置換される際に、歪が緩和され、フィルムの電気的性質及び光学的性質が測定し得る程度に変化する。

導電性粒子が使用されてもよく、この場合、抗原が導電性粒子に付着されてもよく、あるいは抗体がケージ形(caged) 金化合物または金属(例えば、金もしくはタンゲステン) 複合体の如き金属粒子に結合されてもよい。

つなぎ(tethered) 抗体が使用されてもよく、こ

の場合、抗体はその結合部位により抗原連鎖フィルムに結合し、かつ官能基により抗体に化学的にカップリングされる。抗原への抗体の結合は、重合体の配座の変化をもたらす。フィルムに結合された抗原が試料中の抗原と競合する場合、試料中の抗原の量に応じて、抗体への界面活性剤フィルムに連鎖された抗原の結合の程度が異なる。

重合体の歪は、特に分子延長橋が微小加工技術により形成し得る場合に、重合体に付着された抗原を与えることにより形成し得る。微小延長橋は、延長橋の先端がタンパク質/重合体表面にごく接近して置かれるように、微小加工し得る。結合部材の一つが延長橋先端に付着され、第二部材がタンパク質/重合体フィルムに付着される場合には、直接結合が先端と表面との間で生じる。延長橋は緊張スプリングとして作用し、これは、タンパク質/重合体フィルムに結合されると、フィルムに強度の歪を形成する。分析対象がフィルム表面に溶離され、結合部材の一つと結合に関して競合する場合に、緊張が緩和される。また、ドラム膜

が同様の方法により形成されてもよい。光パルス系が、フィルムの導電率を増加し、製造中の重合体の品質を調べ、信号を安定化し、または一過性ノイズを消すために、使用し得る。

重合層の配座の乱れ、例えば変化は、フィルムの電気的性質の変化により検出し得る。こうして、界面活性剤層を横断して電圧低下を与えることにより、電圧の変化が検流計、高インピーダンス抵抗計、電流計または電圧計により検出し得る。検出し得る、その他の電気特性は、時間領域反射率計測であり、これは高速、高周波数レーダー型パルス及び周波数領域応答の使用を伴ない、この場合、スペクトル周波数パターン化がフィルム表面への分析対象結合の関数として監視し得る。電気交流測定が、非特異的マトリックス効果によるバックグラウンドノイズをフィルターして除くのに都合がよい。有効な回路は、バイオセンサーチップを挿入するための入口、電力供給源、電気増幅器、アナログ／デジタル変換器、チャンネル多重系、ソフトウェア及び回路板を含むコンピュータ

インターフェース部品、コンピューター、表示用端末装置、並びにプリンターを含む。装置の設計は、正確なデータ分析に必要な全ての信号処理能力を有する手動装置を含む。

幾つかの線形及び非線形の両方の光学系の技術が、測定フォーマットに組込まれてもよい。これらの技術は、信号増幅の手段としての結合層（これは、結晶性または非結晶性であってもよい）、特にタンパク質層と組合せた、規則的な重合体層に頼る。こうして、規則的もしくは不規則のタンパク質層が使用し得る。

線形光学装置は、分析対象結合の際の薄いフィルムの蛍光吸収特性及び反射率特性の変化、帯電キャリアの光照射、等に基づき得る。その他に、光複屈折特性及び円偏光二色性が監視し得る。蛍光吸収または反射率のシフトに関して、高度の共役ポリジアセチレン重合体主鎖は、局所電子環境により指示される特異なスペクトル特性をもつことが注目される。重合体に特異的に付着されたリガンドへの分析対象の結合により誘導され蛍光吸

収シフトを監視することにより、分析対象濃度に関する定量的な相関関係がつくり得る。帯電キャリアの光照射に関し、導電性重合体フィルムへのプレパルスの適用は、再結合前の帯電キャリアの平均自由経路の特性である過渡電気減衰を生じる。分析対象の結合及びその後のフィルムのよじれ(kinking)は、キャリアの平均自由経路を減少する。この変化は、通常の過渡光伝導測定を用いて、または過渡電気減衰のフーリエ変換を行なって、感度よく監視し得る。

複屈折に関し、配列された分子の系は光学的に複屈折であり、入射放射線の偏光を特定量回転する。重合体／タンパク質フィルムへの分析対象分子の結合は、フィルム中の分析対象結合分子の分子配列を変化する。分子の再配向は、複屈折の変化をもたらし、これが順に線形偏光の特異な回転として顕在化される。

円偏光二色性(CD)が、分析対象の検出に使用し得る。光複屈折は屈折率の“実際”の部分の変化を監視するが、CDは屈折率の“想像上”の

部分を測定するのに使用し得る。CDは、光がタンパク質／重合体フィルムに通された後に、光のだ円率の程度を測定することにより、使用し得る。フィルムのCDスペクトルは、分析対象の結合が起こる前、その間、及びその後に測定し得る。分析対象の結合は、フィルムの光異方性を変調し、これが順にCDスペクトルの観察し得るシフトをもたらす。

非線形光学装置に関して、レーザー誘導光子分光法(LIPS)、表面調波発生または光学力ー効果が使用し得る。LIPS技術は過渡ホログラフィー格子技術を伴ない、この技術は液体及び固体の正味の機械的及び振動的構造に関する超感度(ultrasensitive)の情報を与える4波混合の形態である。

溶液中のタンパク質²／重合体フィルムまたは巨大分子複合体への関係ある分析対象の結合は、その材料の光子構造を著しく変化し、それ故、観察し得る過渡格子に直接にそれ自体を顕在化する。表面調波発生は、入射放射線から2倍の周波数に於ける放射線の変換をもたらす非中心対称結晶中

の基本的な非線形の光-物質相互作用の結果としてである。この技術は、表面領域が非中心対称性であることから、固有の表面感受性である。フィルムの表面への分析対象の結合は、非線形の光学的性質を変化して、第二の調波信号を著しく変化し、この信号が光検出器により観察し得る。

最後に、光力-効果は、光力-効果をナノ秒の時間の分離能をもって監視するのに使用し得る。分析対象の結合の際の（被相中の）分子の再配向の力学は、それ自体を、観察可能な過渡格子に直接顕在化する。

また、分析対象検出測定は、原子力顕微鏡検査〔O. マルチ (Marti)、H. O. リビ (Ribi)、B. ドレーク (Drake)、T. R. アルブレヒト (Albrecht)、C. F. クェート (Quate)、及び P. K. ハンスマ (Hansma) 著、Science (1988年) 239 巻、50～52頁〕、及び走査トンネル式顕微鏡検査〔C. F. クェート著、Phys. Today (1986年) 39 巻、26頁〕の如き、新しい顕微鏡検査技術の使用により行なわれてもよい。これらの方法はタンパク質／

重合体フィルムの表面及び電子構造を精査するのに使用し得る。分析対象の検出は、分析対象がフィルム表面に結合する前、その間、及びその後、フィルムの構造を視覚により観察することにより行なわれる。光学フィルター法が、フィルムの明らかな構造変化を増強するのに使用し得る。

本発明を更に理解するため、図面を参照して説明する。

第1図に、本発明のバイオセンサーの調製方法の略図が示されている。第一工程は絶縁表面上の金属電極の蒸着を伴ない、ここで金属電極12がウェーハ10の上に蒸着され、この場合、蒸着の位置はスクリーン14により調節される。その後、超薄導電性重合体16がウェーハ10の上の電極12及び間隙18の上に被覆される。その後、絶縁が、電極12のまわりの領域を絶縁材20で被覆することにより行なわれ、この場合、スクリーン22はシーラント20で被覆される領域を導く。その後、界面活性剤重合体フィルム16がレセプター24により活性化され、続いてフィルム26により保護シールされる。

第2図に、回路及びバイオセンサーの設計線図が示されている。絶縁支持体30は、電極32及び電極シール並びに水バリアー34を支持する。タンパク質レセプター38が界面活性剤重合体層36に結合される。電極32は、ワイヤー40及び42により、電力源44及び電気信号の変化を測定するための計器46に接続される。緩衝剤48が、水バリアー34と分析対象の受容のためのタンパク質38により形成される領域に入れられる。

以下の実施例は、説明のために示され、限定するためではない。

実施例

バイオセンサー装置を、以下のようにして調製した。

4つの実験に関し、活性カルボン酸基及び求核性アミンまたはヒドロキシルを伴なう縮合反応を用いて、リガンドと連鎖された界面活性剤を調製した。10, 12-ペンタコサジン酸を無水条件下でトリメチルアセチルクロリドで活性化して、活性非対称酸無水物を生成した。この酸無水物を過

剰のエチレンジアミンまたはエタノールアミンで（その場で）処理して、エチレンジアミノ-10, 12-ペンタコサジンアミド (EDA-PDA) またはエタノールアミノ-10, 12-ペンタコサジンアミド (EA-PDA) を夫々生成した。1.5モル当量のジエチルアミンを触媒塩基として添加した。反応を室温で3時間進行させた。EDA-PDA またはEA-PDA を、シリカゲルカラム及びクロロホルム/メタノール勾配を用いてクロマトグラフィーで精製した。EDA-PDA またはEA-PDA を、遊離カルボン酸を含むリガンド（上記のようにして化学的に活性化された）と縮合して、リガンドと連鎖された重合性界面活性剤を調製した。バイオセンサーを加工する目的のため、この方法により調製された、リガンドと連鎖された界面活性剤の代表例は、2, 4-ジニトロフェニル-アミノカプロイル-EDA-PDA、テオフィリン-8-ブチロイル-EDA-PDA、 α -ガラクトース-1, 4- β -ガラクトース-ジエチレンオキサイド-アミドスクシニル-EDA-PDA、ビオチン-アミノカプロイル-

EDA-PDA、N-デメチルリファムピシンスクシニル-EDA-PDA、及びdATP-EDA-PDAを含む。

抗ジニトロフェニル抗体に特異的なバイオセンサーを加工するため、2,4-ジニトロフェニル-アミノカプロイル-EDA-PDAを調製した。抗テオフィリン抗体及びテオフィリン分析に特異的なバイオセンサーを加工するため、テオフィリン-8-ブチロイル-EDA-PDAを調製した。種々の分析にストレプトアビジンを結合部材として利用するバイオセンサーを加工する目的で、ピオチン-アミノカプロイル-EDA-PDAを調製した。RNAポリメラーゼを検出するためのバイオセンサーを加工する目的で、N-デメチルリファムピシンスクシニル-EDA-PDAを調製した。dATPに結合する、酵素及びその他のタンパク質を検出するためのバイオセンサーを加工する目的で、dATP-EDA-PDAを調製した。大腸菌のP₁フィムブリアル(Fimbrial)株を検出するためのバイオセンサーを加工する目的で、α-ガラクトース-

1,4-β-ガラクトース-ジエチレンオキサジアミノスクシニル-EDA-PDAを調製した。

また、混合重合フィルムを形成する目的で、エタノールアミノ-10,12-ペンタコサジインアミド(BA-PDA)を調製した。通常、1~10%のBA-PDAと90~99%のリガンドが連鎖された界面活性剤とを用いて、フィルムを調製した。

ジニトロフェニルに対する抗体の検出のための一つの分析は、界面活性剤に結合されたジニトロフェニルを伴った。そのバイオセンサーを、以下の方法で調製した。ガラス顕微鏡カバースリップ(22mm×22mm)を、5%のジメチルクロロシラン及び95%のヘキサンの溶液に室温で5分間浸漬することによりアルキル化した。カバーストリップを、清浄クロロホルムで2回洗浄し、その後二重ガラス蒸留水で3回すすいだ。カバーストリップを空気乾燥し、ついで清浄な乾燥窒素ガスの流れでほこりを除去した。

抗原として2,4-ジニトロフェニル(DNP)を含む重合単層を調製し、以下のようにしてアルキ-

ル化カバーストリップに移した。ガラス顕微鏡スライド(予備洗浄し、その後窒素流でほこりを除去した)を銅板(10cm×10cm平方及び0.4cmの厚さ)の上に置いた。二重ガラス蒸留水2.0mlをガラススライドの一端に適用した。10mg/mlのモノマー(2.5モル%の2,4-ジニトロフェニルアミノカプロイル-エチレンジアミン-10,12-ペンタコサジインアミド及び97.5モル%のエタノールアミノ-10,12-ペンタコサジインアミド)を含む溶液2.0μlを、5μlのマイクロピペットにより、二つの等しいアリコートで室温で水性表面に適用した。溶媒の蒸発の際に、モノマーは水表面で小さな目視し得る島に乾燥した。銅板を、予熱したホットプレート(ホットプレート表面で約200℃)に移した。銅板、顕微鏡スライド、及び水を、モノマーの島が水表面で融解し溶解するまで、加熱した。銅板を3~5分間加熱した後、水中に埋められた予備冷却アルミニウムブロックに移した。銅板、スライド及び水を4℃に冷却した。

単層を、2インチ(5cm)の距離にあるUV 254

nmの短波長ランプ(4ワット、8インチ(20cm)で200μWの出力)で4分間重合した。単層は、目視でピンク色に見えた。アルキル化ガラスカバーストリップへの重合フィルムの移動は、一對の小さなピンセットでカバーストリップを水平に保持し、ついでフィルムの疎水性部分(空気に面する側)が直接接触されるように、カバーストリップを徐々に下げるにより行なった。接触がカバーストリップと水性表面との間で生じた数秒後に、カバーストリップを引き離して空気乾燥した。移動後に、アルキル化ガラスカバーストリップは、均一なピンク色に見えた。

シルバーペイントをピンク色の重合体表面に直接適用することにより、銀電極を、単層で被覆されたカバーストリップに直接適用した。シルバーペイント(電極銘柄)を、薄いガラスマイクロピペットの助けにより適用して平行電極(夫々、長さ8mm及び幅2mm)を、電極間の間隙2mmでもって、形成した。電極間の最終表面積は16mm²であった。接着剤銅ストリップを電極に接触させた。電極と

銅ストリップとの電気接触は、シルバーペイントの少量被覆を適用することにより確保した。シルバーペイントを室温で30分間空気乾燥した。

薄いパラフィン被覆物(パラフィルム(Parafilm))を用いて、電極を水から電氣的に絶縁した。パラフィルムのストリップ(1.4 cm×2.0 mm)を、夫々の電極の上に置いて、電極間にチャンネルを形成し、その結果、チャンネル間でシルバーペイントが空気に暴露される、目視できる徴候はなかった。細い円筒形ガラス棒(直径4.0 mm)を用いて、パラフィルムストリップを電極の上に注意して押しつけた。その装置を炉(125℃)に2分間入れることにより、パラフィルムを、電極及び重合体の表面上に融解した。装置を室温に冷却した後、凝固したパラフィルムは電極上で水密バリアーを形成した。

バイオセンサー装置は、一方の銅試験リード線を10ボルトのDC電力源の正端子に取り付け、他方を電位計(ケルスリイ(Kelthly)640)の三本の入力リード線の一つに取り付けることにより試験

した。回路は、その他の電位計入力リード線を電力源地面及び負電圧端子に接続することにより完結した。電位計出力(−1.0 V〜+1.0 V)をA/Dコンバーターボードに接続し、これをデスクトップコンピューターと接合した。電位計出力をデジタル化し、電位計により測定されるアンペアの実際の単位に変換し、カラーグラフィックディスプレイスクリーンで表示した。

バイオセンサー分析を行なう前に、電位計設定を 1.0×10^{-9} アンペアの設定範囲に調節した。電位計を、ゼロ・チェックスイッチで校正した。感度を設定2に入れた。バイオセンサー装置の基準線電流は、4.0 ピコアンペアであった。装置の導電率は、3インチ(7.6 cm)の距離で重合体表面上で強い可視光のパルスを発することにより検査した。

緩衝剤(140mMのNaClを含むブリス、pH7)をバイオセンサーの上に置いた。分析操作は、緩衝剤100μlを、電極間で、かつチャンネル内のバイオセンサーの上に置くことを伴った。センサー

の信頼性は、センサー表面から1インチ(2.5 cm)の距離で強い可視光のパルスを発することにより試験した。夫々の光パルスは、バックグラウンド上の電流の100倍の増加を与えた。フィルムの保全性を一旦確かめた後、抗ジニトロフェニル抗体(溶液1 ml当り抗体1 mgの溶液1 μl)を緩衝液に微小注入した。最初に、4.0 ピコアンペアの平らな基準線を観察した。基準線は数秒間安定のままであり、その後、9.0 ピコアンペアまでの電流の明らかな急上昇を記録した。

テオフィリンの抗体の検出のための第二の分析は、界面活性剤に結合されたテオフィリンを伴った。緩衝剤(10mMのブリス、pH7.0、120mMのNaCl)100μlを、センサーの上に置いた。光応答を、上記のようにして監視した。バックグラウンドよりも100倍の電流増加を記録した。フィルムの保全性を一旦確かめた後、抗テオフィリン抗体(溶液1 ml当り1 mgのタンパク質の溶液1 μl)を緩衝液に微小注入した。最初に、3.0 ピコアンペアの平らな基準線を観察した。基準線は、数秒

間安定のままであり、その後、8.0 ピコアンペアまでの電流の明らかな急上昇を、2分以内に記録した。新しい基準線は30分間安定のままであり、この時点で分析を終了した。

アビジンの検出のための第三の分析は、界面活性剤に結合されたビオチンを伴った。緩衝剤(上記と同じ)100μlを、センサーの上に置いた。光応答を、上記のようにして、監視した。ピコアンペアからナノアンペアへの電流増加を記録した。フィルムの保全性を一旦確かめた後、アビジン(溶液1 ml当り1 mgのタンパク質の溶液1 μl)を緩衝液中に微小注入した。最初に、数ピコアンペアの平らな基準線を観察した。基準線は、数秒間安定のままであり、その後1分以内に、バックグラウンドよりも電流の明らかな3倍の急上昇を記録した。新しい基準線は30分間安定のままであり、この時点で分析を終了した。

第四の分析は、重合体フィルムに結合されたテオフィリンを含むセンサーにつき、抗テオフィリン抗体の検出のために蛍光測定の使用を伴った。

センサーは、重合体フィルムがローダミンフィルムを用いて75倍の倍率で見ることができるよう、顕微鏡物体の下に置いた。緩衝液 500 μ l を、顕微鏡物体が緩衝液中に浸漬されるように、フィルムの上に置いた。フィルムは、色及び強さのくすんだオレンジ色に見えた。抗テオフィリン抗体の 1 mg/ml 溶液 3 μ l を、緩衝液に微小注入した。注入直後に、蛍光の強さは75%増加し、くすんだオレンジ色のフィルムは外観で一層明るくなった。テオフィリンを含まなかった対照フィルムは、抗テオフィリン抗体により影響されなかった。

上記の結果から、広範囲の分析対象の検出のために感度のよい技術が提供されることが明らかである。界面活性剤ポリ不飽和重合体の性質の変化に関連する電気信号または光信号を検出するための多数の異なる技術が使用し得る。異なるプロトコルを使用することにより、関係する分析対象が、ハプテン及び抗原からウイルス、細胞等の如き集合体までの範囲に及び得る。

本明細書に引用された、全ての刊行物及び特許

出願は、夫々個々の刊行物が詳細に個々に記載されている如く、本明細書に参考として含まれる。

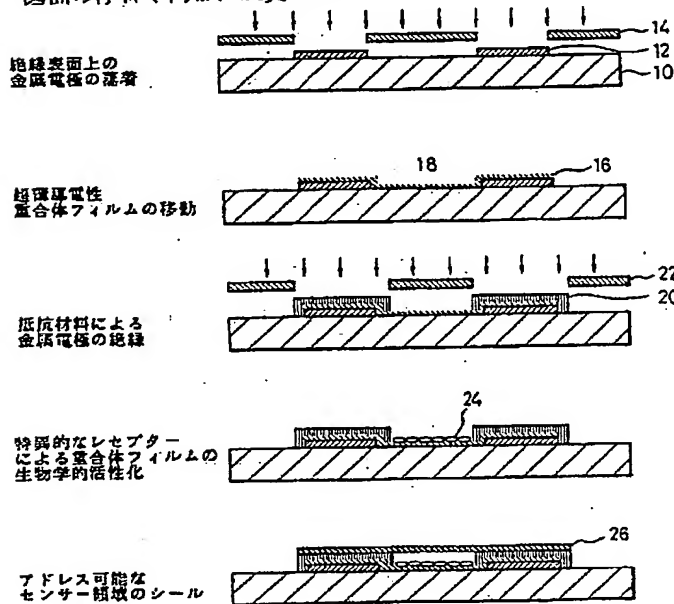
以上、本発明が理解を明瞭にする目的で例示及び実施例により一部詳しく説明されたが、或種の変化及び改良が、特許請求の範囲の精神または範囲から逸脱しないで、本発明になし得ることは、本発明の教示を考慮して、当業者に明らかである。

4. 図面の簡単な説明

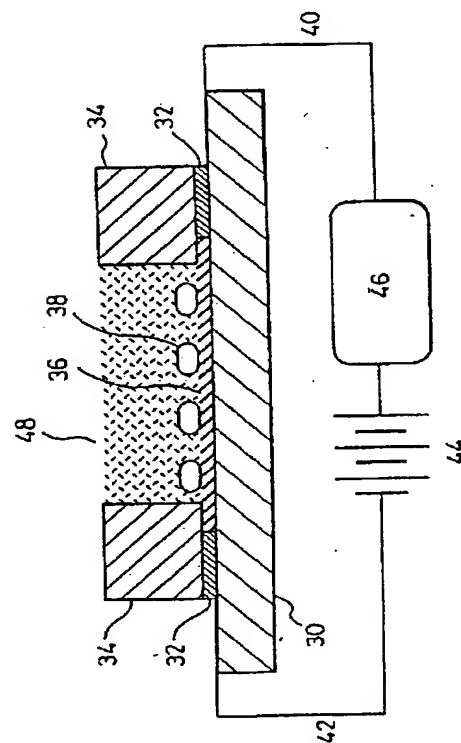
第1図は、バイオセンサーの調製方法の略図である。

第2図は、回路及びバイオセンサーの略図である。

図面の浄書（内容に変更なし）



第1図



第2図

手続補正書(方式)

平成2年10月26日

特許庁長官 植松 敏 殿

1. 事件の表示

平成2年特許願第155615号

2. 発明の名称

電気信号、光学信号及び機械信号を使用する
バイオセンサー

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 バイオセンサーキット コーポレーション

4. 代理人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号

静光虎ノ門ビル 電話 504-0721

氏名 弁理士(6579) 青木 朗

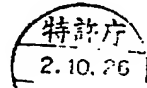
(外4名)



5. 補正命令の日付

平成2年8月28日(発送日)

方式 (点)



6. 補正の対象

- (1) 願書の「出願人の代表者」の欄
- (2) 委任状
- (3) 明細書
- (4) 図面

7. 補正の内容

- (1)(2) 別紙の通り
- (3) 明細書の浄書(内容に変更なし)
- (4) 図面の浄書(内容に変更なし)

8. 添附書類の目録

- | | |
|-------------|-------|
| (1) 訂正願書 | 1 通 |
| (2) 委任状及び訳文 | 各 1 通 |
| (3) 浄書明細書 | 1 通 |
| (4) 浄書図面 | 1 通 |

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載
 【部門区分】第6部門第1区分
 【発行日】平成10年(1998)12月18日

【公開番号】特開平3-128449
 【公開日】平成3年(1991)5月31日
 【年通号数】公開特許公報3-1285
 【出願番号】特願平2-155615
 【国際特許分類第6版】

G01N 27/02
 27/12

【F I】

G01N 27/02 D
 27/12 A

手続補正書

平成9年5月25日

特許庁長官 荒井 寿 光 殿

1. 事件の表示

平成2年特許願第155615号

2. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 バイオセンサーチップ コーポレーション

3. 代理人

住所 〒105 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門31ビル

貴和特許法律事務所 電話 03-5470-1900

氏名 弁理士(〒51)石 田 敬



4. 補正により増加する請求項の数 2

5. 補正対象書類名

明 細 書

6. 補正対象項目名

特許請求の範囲

7. 補正の内容

別紙の通り

8. 添付書類の目録

特許請求の範囲

1 面

2. 特許請求の範囲

1. バイオセンサーに機械的剛性を与える第一の非導電性支持体であって、前記支持体の第一表面上に少なくとも二つの隔置された電気リード線を含む、第一の非導電性支持体、

前記電気リード線と電気的に接触し、かつ前記第一表面を前記リード線の間で被覆する、導電性有機重合界面活性剤層、

前記電気接触を水との接触から保護するためのシール被覆物、

前記重合界面活性剤層に結合された有機分子層であって、水性媒体中の相違部材に結合するための特異的な結合対の部材を含む、有機分子層、
 からなる複合体を含むバイオセンサー。

2. 前記結合された有機分子がレセプターである、請求項1記載のバイオセンサー。

3. 前記結合された有機分子がハプテンである、請求項1記載のバイオセンサー。

4. 前記重合界面活性剤層が界面活性剤ジンを含む、請求項1記載のバイオセンサー。

5. 前記界面活性剤ジンは6~100個の炭素原子の脂肪族鎖を有する、請求項4記載のバイオセンサー。

6. 前記有機分子層が相違部材の複合体により前記界面活性剤層に結合されている、請求項1記載のバイオセンサー。

7. 前記有機分子層が共有結合により前記界面活性剤層に直接結合されている、請求項1記載のバイオセンサー。

8. 前記支持体が透明であり、向かい合う第二面が反射性である、請求項1記載のバイオセンサー。

9. バイオセンサーに機械的剛性を与える第一の非導電性支持体であって、前記支持体の第一表面上に設置された少なくとも二つの隔置された電気リード線を含む、第一の非導電性支持体、

前記電気リード線と電気的に接触し、かつ前記第一表面を前記リード線の間で被覆する、少なくとも12個の炭素原子の界面活性剤部分を有する導電性有機重合

界面活性剤層であって、界面活性剤ジンの重合により生成された有機重合界面活性剤層、

前記電気接触を水との接触から保護するためのシール被覆物、

前記重合界面活性剤層に結合された有機分子層であって、水性媒体中の標的部材に結合するための特異的な結合対の部材を含む、有機分子層、
からなる複数の層を含むバイオセンサー。

10. 前記有機分子層がタンパク質の異質的に配向された層である、請求項9記載のバイオセンサー。

11. 前記有機分子層がハプテンの層である、請求項9記載のバイオセンサー。

12. バイオセンサーに機械的閉性を与える第一の非導電性支持体であって、前記支持体の第一表面上に少なくとも二つの隔置された電気リード線を含む、第一の非導電性支持体、

前記電気リード線と電気的に接触し、かつ前記第一表面を前記リード線の間で被覆する、導電性有機重合界面活性剤層、

前記電気接触を水との接触から保護するためのシール被覆物、

前記重合界面活性剤層に結合された有機分子層であって、水性媒体中の標的部材に結合するための特異的な結合対の部材を含む、有機分子層、
からなる複数の層を含む装置をバイオセンサーとして使用する、分析媒体中の分析対象の検出方法であって、

前記の方法が、

前記有機分子層への前記分析対象の結合が前記重合界面活性剤層の乱れを生じるか、あるいは前記分析対象または前記有機分子層に結合する試薬が前記分析媒体中の分析対象の量に比例して添加されて前記の重合界面活性剤層中に乱れを生じさせ、この乱れが前記重合界面活性剤層の電気的性質または光学的性質の変化を生じるように、前記特異的な結合対の標的部材である分析対象を含むであろう分析媒体を前記有機分子層に添加すること、及び

前記分析媒体中の前記分析対象の存在の指示として、前記重合界面活性剤層の電気的性質または光学的性質の変化を検出すること、
を含む、検出方法。

13. 前記分析対象がタンパク質であり、前記特異的な結合対部材がハプテンである、請求項12記載の方法。

14. 前記分析対象が多価であり、前記有機分子層中の複数の有機分子に結合している、請求項12記載の方法。

15. 前記試薬が、前記分析対象と交差反応性の複数の分子を含む粒子である、請求項12記載の方法。

16. 前記光学的性質の変化が前記重合界面活性剤層の吸収特性の変化である、請求項12記載の方法。

17. 前記光学的性質の変化が前記重合界面活性剤層の放射特性の変化である、請求項12記載の方法。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.